

学位論文の要旨

Pitfall of light transmission aggregometry-based assessment of platelet function in acute ischemic stroke patients.

(透過光法を用いた血小板凝集能検査で急性期脳梗塞患者の血小板機能検査を行う際のピットフォール)

Eriko Sugawara

菅原 恵梨子

Neurology and Stroke Medicine

Yokohama City University Graduate School of Medicine

横浜市立大学 大学院医学研究科 医科学専攻
神経内科学・脳卒中医学

(Research Supervisor: Ken Johkura, Visiting Professor)

横浜市立脳卒中・神経脊椎センター 脳神経内科

横浜市立大学 大学院医学研究科 医科学専攻

神経内科学・脳卒中医学

(研究指導教員：城倉 健 客員教授)

(Doctorial Supervisor: Fumiaki Tanaka, Professor)

(指導教員：田中 章景 教授)

学位論文の要旨

Pitfall of light transmission aggregometry-based assessment of platelet function in acute ischemic stroke patients.

(透過光法を用いた血小板凝集能検査で急性期脳梗塞患者の血小板機能検査を行う際のピットフォール)

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1052305719305804>

【キーワード】

透過光法, 血小板凝集能, 血小板凝集塊, 多血小板血漿, 急性期脳梗塞

【背景】

透過光法を用いた血小板凝集能検査 (Light Transmission Aggregometry; LTA) は血小板機能検査のゴールドスタンダードといわれ (Linnemann et al., 2008) 歴史的に血小板機能低下症患者の評価において重要な役割を果たしてきた。一方で, 血小板機能亢進を伴う急性機脳梗塞では, 患者検体を測定した際の結果が一定していないため (Dougherty Jr et al., 1977; Fateh-Moghadam et al., 2007; Uchiyama et al., 1983) その有用性は未だ確立しておらず (Cattaneo et al., 2013), 測定結果が一定しない背景についても明らかにされていない。一方, 近年クエン酸血を自動血液算定装置で計測し血小板凝集塊の析出をみることで簡易的に血小板機能亢進を検出する方法が報告されている (Shimizu et al., 2003, 2006, 2011)。これまでに LTA ベースの血小板凝集能検査と血液算定装置を用いた血小板凝集塊検出の比較をはじめとする血小板機能亢進を評価する方法についての詳細な検討はなされていない。

【目的】

本研究では, 前半の研究 (研究 1) において血液算定装置での計測で検出される血小板凝集塊が透過光法を用いた血小板凝集能の結果に与える影響に関して検討した。後半の研究 (研究 2) では急性期脳梗塞患者と健常人の血小板凝集能結果, および自動血液算定装置を用いたクエン酸血中凝集塊の検出率の結果を比較検討した。それらの結果を統合的に考察することで, これまで, 急性期脳梗塞患者で LTA ベースの血小板機能評価の結果が一定しなかった理由につき検討した。

【方法】

研究 1 では 19 例（健常群 6 例，患者群 13 例）のクエン酸血に対して，まず自動血液算定装置を用いて血小板凝集塊を人為的に発生させた．その検体を遠心分離して作成した多血小板血漿（Platelet rich plasma; PRP）と人為的な血小板凝集塊形成を行わない通常作成の PRP で，LTA ベースの血小板最大凝集率（Maximum aggregation rate; MA%）に差があるかについて比較した．研究 2 では未治療の急性期心原性脳梗塞患者 22 例と健常群 65 例について LTA 血小板最大凝集率，自動血液算定装置を用いたクエン酸血中凝集塊の検出率の結果の違いを比較した．研究 1，2 とも遠心分離前後でのクエン酸血，PRP 中の血小板数，平均血小板容積（Mean platelet volume; MPV）についても比較した．

【結果】

研究 1 では血小板凝集塊形成後のクエン酸血から作成した PRP のほうが，通常作成の PRP より有意に最大血小板凝集率が低く（ $p<0.05$ ），有意に PRP 中の血小板数，MPV が低下していた（ $p<0.0001$ ）．研究 2 で血小板凝集塊は患者群で多く検出されたが（ $p<0.01$ ），LTA 最大血小板凝集率は患者群で逆説的に有意に低く記録された（ $p<0.05$ ）．また，遠心分離操作前後での PRP/クエン酸血血小板数比，および MPV 比は患者群で有意に低かった（ $p<0.05$ ）．

【考察】

研究 1 ではクエン酸血中に血小板凝集塊が発生すると，その検体を用いて作成した PRP における LTA 最大凝集率は低下した．凝集塊析出後に LTA MA%が低下した理由に関しては追加実験を行い，研究 1 の結果とあわせクエン酸血中で血小板凝集塊析出により，MPV 低下で表される大型で活性の高い血小板の選択的な喪失が LTA の最大凝集率減少に寄与していると考察した．研究 2 では急性期脳梗塞患者の血小板機能を LTA で計測した場合，患者群では血小板凝集塊の析出で評価した血小板機能が亢進しているのにもかかわらず，健常群より LTA 最大凝集率が逆説的に低くなることを示した．既報告では脳梗塞患者の血小板機能は亢進すると報告されていることから（Fateh-Moghadam et al., 2007; Uchiyama et al., 1976; Zeller et al., 1999），血小板凝集塊のほうが病態を正確に反映していると考えられる．LTA 最大凝集率が患者群で低くなった理由について遠心分離前後の血小板数，MPV 比から考えると，PRP 作成中に患者群クエン酸血中の大型で活性化した血小板が凝集塊を形成して沈殿し PRP から除去されるためと考察した．この現象は，これまでに行われてきた LTA ベースの血栓症患者に対する血小板機能亢進の検討が必ずしも実際の血小板機能亢進を検出できていなかったことの一因と考えられる．

【結語】

急性期脳梗塞患者では血小板凝集塊が析出しやすく血小板機能は亢進しているが、クエン酸血中の活性化血小板が PRP 作成過程の遠心分離操作で喪失するため、LTA ベースの血小板凝集能検査では正確に血小板機能を測定できない可能性が高い。本研究成果は、血小板機能亢進を正確に評価する新たな方法を開発していく上での基盤となるものである。

【引用文献】

Cattaneo, M., Cerletti, C., Harrison, P., Hayward, CP., Kenny, D., Nugent, D., Nurden, P., Rao, AK., Schmaier, AH., Watson, SP., Lussana, F., Pugliano, MT., Michelson, AD.(2013). Recommendations for the standardization of light transmission aggregometry: a consensus of the working party from the platelet physiology subcommittee of SSC/ISTH. *J Thromb Haemost.* 11,1183-1189.

Dougherty Jr., JH., Levy, DE., Weksler, BB.(1977) Platelet activation in acute cerebral ischaemia. Serial measurements of platelet function in cerebrovascular disease. *Lancet.* 1, 821-824.

Fateh-Moghadam, S., Htun, P., Tomandl, B., Sander, D., Stellos, K., Geisler, T., Langer, H., Walton, K., Handschu, R., Garlichs, C., Daniel, WG., Gawaz, M. (2007). Hyperresponsiveness of platelets in ischemic stroke. *Thromb Haemost.* 97, 974-978.

Linnemann, B., Schwonberg, J., Mani, H., Prochnow, S., Lindohoff-Last, E. (2008). Standardization of light transmittance aggregometry for monitoring antiplatelet therapy: an adjustment for platelet count is not necessary. *J Thromb Haemost.* 6, 677-683.

Shimizu, M., Kamio, K., Iwamoto, T., Ando, Y., Kuwahira, I.(2006). Simple, rapid and automated method for detection of hyperaggregability of platelets in sleep apnea syndrome. *J Thromb Haemost.* 4, 920-922.

Shimizu, M., Yamamoto, M., Miyachi, H., Shinohara, Y., Ando, Y. (2003). Simple, rapid, and automated method for detection of hyperaggregability of platelets using a hematology analyzer. *AmJ Hematol.* 72, 282-283.

Shimizu, M., Yamamoto, M., Takizawa, S., Kohara, S., Takagi, S., Shinohara, Y. (2011). Platelet aggregates detected by a conventional hematology analyzer method is a risk factor for stroke or a predictive factor in patients with chronic-stage cerebral infarction. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 20, 275-281.

Uchiyama, S., Takeuchi, M., Osawa, M., Kobayashi, I., Maruyama, S., Aosaki, M., Hirose, K.(1983). Platelet function tests in thrombotic cerebrovascular disorders. *Stroke.* 14, 511-517.

Zeller, JA., Tschoepe, D., Kessler, C. (1999). Circulating platelets show increased activation in patients with acute cerebral ischemia. *Thromb Haemost.* 81(3), 373-377.

【論文目録】

I 主論文

Pitfall of light transmission aggregometry-based assessment of platelet function in acute ischemic stroke patients.

Sugawara, E., Shimizu, M., Yamamoto, M., Kudo, Y., Tanaka, F., Johkura, K.(2019),
J Stroke Cerebrovasc Dis. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2019.104496. [in press]

II 副論文

Influence of platelet aggregate formation in blood samples on light transmission aggregometry results.

Sugawara, E., Shimizu, M., Yamamoto, M., Kudo, Y., Tanaka, F., Johkura, K. (2019),
J Stroke Cerebrovasc Dis. 28(4), 1001-1006.

III 参考論文

なし